Münster 1936 No 50 Med DiSS

Aus dem Hygienischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster/Westf.
Direktor: Prof. Dr. K. W. Jötten.

Die Anwendung spezifischer Proteusphagen bei Herauszüchtung pathogener Keime aus mit Proteus verunreinigten Gemischen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität, Münster/Westf.

vorgelegt von:
Mathilde Derendorf, Zahnärztin
aus Neuß/Rhein.

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i.W.
1936.

Dekan: Prof. Dr. K. W. Jötten.

Referent: Prof. Dr. Fr. Sartorius.

Korreferent: Prof. Dr. K. W. Jötten

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster/Westf.

Meinen lieben Eltern

in herzlicher Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547204_0080

Die Proteusbazillen haben gegenüber den meisten anderen Bakterien die Eigenschaft, beim Wachstum auf festen Nährböden keine abgegrenzten Kolonien zu bilden, sondern sich schwärmend über die Platte auszubreiten. Diese Eigenschaft macht sich nun in den vielen Fällen, in denen Proteusbazillen in Gemeinschaft mit anderen pathogenen Bakterien angetroffen werden, sehr unangenehm in der Weise bemerkbar, daß die festzustellenden pathogenen Keime von dem Schleier der Proteusbazillen überwuchert und evtl. sogar im Wachstum behindert werden. Es ist daher ein schon lange bekanntes Ziel der bakteriologischen Diagnostik, das Proteuswachstum resp. die Schleierbildung bei Mischkulturen durch bestimmte Mittel einzuschränken resp. zu verhindern. Die in der Hauptsache schon angewendeten Mittel kann man nach verschiedenen Gesichtspunkten gruppieren.

Bei einer ersten Gruppe ist das Bestreben vorhanden, durch physikalische Mittel die Schwärmfähigkeit der Proteusbazillen einzuschränken. Hierher gehören zunächst die Versuche von Braun und Schaeffer, die fanden, daß der Feuchtigkeitsgehalt des Nährbodens für die Schwärmfähigkeit der Proteusbazillen von Bedeutung ist. Auf einem trockenen Nährboden wächst der Proteusbazillus nur sehr langsam, erst am dritten Tage tritt ein Schwärmen auf. Seydel hielt die Erhöhung der Bebrütungstemperatur für nützlich, da er bei 42° hauchloses Wachstum des Proteus eintreten sah.

Praktisch wichtiger als die genannten physikalischen Versuche sind die Vorschläge bezüglich der Verwendung chemischer Stoffe. Sowohl unter den anorganischen wie unter den organischen Verbindungen fehlt es nicht an Stoffen, die mit mehr oder weniger großem Erfolg das Schleierwachstum verhindern. So wurden von anorganischen Stoffen zunächst von Braun und Schaeffer, Fermi, Speth und Bergemann verschiedene anorganische Säuren und Laugen bezüglich ihrer schleierhemmenden Wirkung geprüft. Setzte man z. B. dem Nährboden Salzsäure bis pH 4,3 oder Schwefelsäure bis pH 4,7 zu, so hatten die genannten Säuren einen hemmenden Einfluß auf die Schleierbildung. Im Gegensatz dazu hatten Salpetersäure und Phosphorsäure keine schleierhemmenden Eigenschaften. Von den Laugen verhinderten Natron- und Kalilauge, 1:30 dem Nährboden zugesetzt, das Ausschwärmen. In der

Praxis allerdings haben diese Versuche mit Säuren- und Laugenzusätze keine größere Anwendung gefunden.

Auch gewisse Salze wirken in bestimmten Konzentrationen hemmend auf die Schleierbildung. So beobachteten Schürer und Wolff sowie Braun und Schaeffer bei einem Zusatz von Kochsalz zum Nährboden von 3proz. hauchloses Wachstum. Kister empfahl für entsprechende Keime den Endonährboden mit einer ganz genauen Einstellung des Fuchsin-Natriumsulfitgehaltes, wodurch die Ausbreitung der Proteusbazillen gehemmt werden sollte. Schustowa wies auf die proteushemmende Eigenschaft des Tetrathionatnährbodens hin, der bekanntlich ein Elektivnährboden für Typhus- und Paratyphusbazillen ist. Shimazu konnte auf Grund seiner Untersuchungen die gute Eignung des Tetrathionatnährbodens in dieser Hinsicht bestätigen. Speth machte auf die proteusbazillenhemmende Eigenschaft des Kalziumchlorids aufmerksam, wobei gleichzeitig das Wachstum der Typhus- und Paratyphusbazillen nicht beeinträchtigt sein sollte.

Weit größer als die Zahl der anorganischen Stoffe ist die Zahl der für die Proteusunterdrückung untersuchten resp. angegebenen organischen Stoffe. Organische Säuren wie Essigsäure, Zitronensäure und Weinsteinsäure haben kaum einen hemmenden Einfluß auf die Hauchbildung. Mit einem Zusatz von Esbachreagens dagegen konnte Speth Proteus unterdrücken, während gleichzeitig anwesende Typhusbazillen angereichert wurden. Als recht wirksam wurde dann von Kleinsorgen und Jusatz das Natrium taurocholicum hingestellt. Sie stellten Galleplatten her, indem sie zum Endoagar 3proz. sterilisierte Rindergalle zusetzten. Aus mit Proteusbazillen verunreinigten bakteriologischen Mischungen erhielten sie Reinkulturen von Typhus-, Paratyphus-, Ruhr-, Pseudoruhr- und Colibazillen; die Bakterien wuchsen sogar auf der Galleplatte noch besser als auf dem gewöhnlichen Endonährboden.

Von den Alkoholen wurde insbesondere der Aethylalkohol auf seine schleierhemmende Wirkung geprüft. Bei einem Alkoholzusatz von 1:20 bis 1:30 erhielten Braun und Schaeffer nur in den ersten 24 Stunden hauchloses Wachstum, dann nahm die Wirkung ab, wahrscheinlich weil durch Verdunstung die Alkoholkonzentration des Nährbodens geringer wurde. Kollath und Rittner hatten dagegen mit Aethylalkohol gute Erfolge. Fast alle pathogenen Keime konnten sie mittels der Alkoholplatte von Proteus trennen.

Eines der bekanntesten und gebräuchlichsten proteushemmenden Mittel ist dann das Phenol. Braun und Schaeffer, Behmer, Jötten und Süring erreichten mit der Phenolplatte gute Herauszüchtung bestimmter pathogener Keime. Sie erhielten insbesondere isolierte Kolonien bei Mischungen von Proteusbazillen mit

Keimen der Typhus-Paratyphusgruppe, weit unsicherer wurde bei Anwendung des Phenols die Herauszüchtung von Diphtherie-, Milzbrand-, Ruhr- und Cholerabazillen. Das Phenol ist demnach für eine ganze Reihe von empfindlichen Keimen als ungünstig zu betrachten, insbesondere wenn die Proteusbazillen ein starkes Uebergewicht gegenüber den anderen Keimen aufweisen.

Von Sartorius und Boedicker wurden dann eine größere Reihe von organischen Körperklassen unter dem Gesichtspunkt geprüft, in welcher Beziehung die Konstitution der chemischen Körper zur Schleierhemmung steht. Untersucht wurden ein- und mehrwertige Phenole, Nitro- und Chlorderivate des Phenols, Nitro- und Aminoderivate des Benzols, Azobenzols und verwandte Stoffe, aromatische Aldehyde und Ketone resp. Ketonabkömmlinge, ferner Stoffe mit Chinoncharakter. Sie kamen zu dem Schluß, daß bestimmte äußere Wirkungsgruppen wie OH, NH_2, NO_2 usw. nicht von ausschlaggebender Bedeutung seien, sondern daß die schleierhemmende Wirkung wohl kernbedingt sei. Ferner ist dann nach Sartorius die Gruppe der Xanthonfarbstoffe elektiv schleierhemmend für Proteus. Es genügt zur Beseitigung des Schwärmens auf der Platte ein Zusatz von Cyanosin und Rose bengale von 1—2 ccm einer 1proz. Lösung, von Phloxin bedarf es etwas größerer Zusätze, während Erythrosin und Jodeosin wechselnd je nach der Alkalinität die Schleierbildung beeinflussen. Eosin und Methyleosin wirken dagegen kaum hemmend. Abgesehen von dieser Farbstoff-Gruppe wurden dann von Braun und Schaeffer, Jötten, Behmer und Gottsacker noch Zusätze von Capriblau, Malachitgrün, Kristallviolett und Eichloff-Blau gelegentlich empfohlen.

Von größtem Interesse waren dann ferner die Versuche von Lode und Howard, welche bei verschiedenen Schlafmitteln eine schleierhemmende Wirkung feststellen konnten. So hemmte Paraldehyd bei einem Zusatz von 0,5 ccm zu 100 ccm Nähragar das Proteuswachstum vollständig, während bei Zugabe von 0,25 ccm die Konzentration von Paraldehyd zu gering war, um auch nur die Schleierbildung unterdrücken zu können. Urethan und Veronal waren beide ungeeignet, das erstere weil es z. B. auch Typhus- und Paratyphuskeime schädigte, das letztere, weil es kaum löslich ist, und deshalb dem Nährboden nur sehr schwer zugesetzt werden konnte. Gut wirksam hingegen waren Zusätze von Medinal und Luminalnatrium zum Nährboden. Auch Zusätze von Morphinum hydrochloricum und Codeinum hydrochloricum erreichten bei bestimmter Konzentration im Nährboden schleierloses Wachstum. Im Zusammenhang hiermit wurde dann von Koch und Kraemer auf die schleierhemmende Wirkung des Chloralhydrats aufmerksam gemacht, wodurch elektiv das Proteusschwärmen unterdrückt wurde, während andere Bakterien wach-

sen konnten. Allerdings wuchsen auf dem Chloralhydratblutagar manchmal die pathogenen Keime schwächer und uncharakteristischer. Von ätherischen Oelen wurden von Lode und Howard Nelken-, Lemongras- und Thymianöl als nicht schleierhemmend angegeben.

Haben auch viele der angegebenen chemischen Mittel für bestimmte Versuchszwecke und Herauszüchtungen zweifellos einen hohen praktischen Wert, so kann doch kein Mittel den Anspruch auf größte Allgemeingültigkeit der Wirksamkeit, d. h. elektiver Proteusunterdrückung resp. Schleierhemmung bei jeder Mischung mit schwachen oder nur vereinzelt anwesenden anderen Keimarten machen. Hier verdient deshalb eine letzte Gruppe, welche die biologisch-spezifischen Mittel umfaßt, stärkste Beachtung. Zu erwähnen ist hier einmal der Versuch von Schuback, mit Hilfe von Proteus-Immunserum die Schleierbildung zu verhüten, der zwar erfolgreich war, aber infolge seiner Kostspieligkeit sich praktisch nicht durchgesetzt hat. Fernerhin besteht die von Dettling zum ersten Male betonte Möglichkeit, spezifische Proteusphagen für die Schleierunterdrückung dem Nährboden zuzusetzen. Gerade an diesem letzten Punkte setzen daher die folgenden eigenen Versuche an, welche bezweckten, für die Anwendung der spezifischen Proteusphagen bei diagnostischen Arbeiten gesicherte Grundlagen und Anwendungsbedingungen auszuarbeiten.

Es ergaben sich hierbei als besondere Gesichtspunkte folgende:

1. die Gewinnung der spezifischen Phagen,
2. die Frage nach der besten Zusatzart,
3. die Frage, in welcher Verdünnung zusammen mit Proteusbazillen empfindliche Keime durch Phaganwendung noch nachgewiesen werden können,
4. ob die Zusammensetzung des Nährbodens bei der Phagwirkung zu berücksichtigen war,
5. in welcher Weise der Phag am besten aufbewahrt wurde, und ob er gegenüber bestimmten Einflüssen wie Lagerung, Temperatur sehr empfindlich war.

1. Der Proteusphage wurde aus Abwasser folgendermaßen gewonnen: In 5 ccm Bouillon wurden 2 Oesen Proteusbazillen geimpft, dann wurde 5 ccm Abwasser dazugegeben und etwa 20 Stunden im Brutschrank von 37° gelassen. Am nächsten Tage wurde das Gemisch von Bouillon und Abwasser keimfrei filtriert, und das Filtrat auf Proteusphagen untersucht. Zu diesem Zwecke wurde ein Tropfen Filtrat auf der Oberfläche einer einfachen Agarplatte verteilt, und die Platte nach Antrocknung mit Proteusbazillen beimpft. Nach etwa 16stündiger Bebrütung wuchsen, wenn das Filtrat phaghaltig

gewesen war, hauchlose Kolonien, die groß, rund, erhaben und undurchsichtig waren.

Zur Weiterzüchtung der Phagen wurden zu 5 ccm Bouillon 0,2 ccm phaghaltiges Filtrat und eine Oese Proteusbazillen gegeben, und die Mischung einen Tag im Brutschrank gelassen. Es setzte dann eine Vermehrung des Phagen ein, und wenn man nach 24 Stunden wiederum filtrierte, hatte man in dem keimfreien Filtrat eine neue phaghaltige Flüssigkeit vor sich. So kann man auf einfache Art und Weise eine beliebig große Menge Bakteriophagen gewinnen.

2. Die so gewonnene phaghaltige Flüssigkeit wurde dem Nährboden zuerst in der Weise zugesetzt, daß je 10 ccm flüssiger, handwarmer Nähragar mit je 2 ccm keimfreien, phaghaltigen Filtrats gut gemischt wurde. Diese Mischung wurde dann in Petrischalen in einer Schicht von etwa 5 mm Dicke ausgegossen. Nach dem Erstarren waren die Platten gebrauchsfertig und unterschieden sich äußerlich nicht von den phaglosen Platten. Da man zu diesen Phagplatten eine relativ große Menge Phagfiltrat gebraucht, und die Herstellung der Mischung immerhin recht umständlich ist, wurde eine andere Möglichkeit, den Platten Phagen zuzusetzen, untersucht. Die Platten wurden erst ohne Phagzusatz hergestellt, und zwar:

einfache Agarplatten,
Endoplatten,
Blutplatten mit einem Blutgehalt von 15—20 proz.,
Kochblutplatten mit einem Blutgehalt von 10—15 proz.,
Traubenzuckerblutplatten mit einem Blutgehalt von 25 proz. und einem Traubenzuckerzusatz von 1 proz.,
Ascitesplatten mit einem Ascitesgehalt von 25 proz.

Auf der Oberfläche dieser Platten wurde 0,1 ccm keimfreies, phaghaltiges Filtrat mit einem sterilen Glasspatel so verteilt, daß die ganze Oberfläche mit der Flüssigkeit in Berührung kam. Nachdem das Filtrat gut angetrocknet war, hatte man gebrauchsfertige Phagplatten.

Diese beiden auf verschiedene Weise hergestellten Phagplatten, die erstere durch Mischen, die letztere durch Antrocknen, wurden mit Proteusbazillen beimpft, um ihre proteushemmenden Eigenschaften festzustellen. Da die Resultate bezüglich der schleierhemmenden Wirkung bei beiden Plattenarten gleich gut waren, wurde für die weiteren Untersuchungen die letztbeschriebene Zusatzart verwendet, da die Herstellung wesentlich einfacher war.

Die Prüfung der Frage, in welchen Verdünnungen empfindliche Keime zusammen mit Proteusbazillen auf der Phagplatte noch nachgewiesen werden können, wurde mit folgenden Keimarten aus-

geführt: Streptokokken, Pneumokokken, Meningokokken, Micrococcus catarrhalis, Typhus-, Ruhr- und Gasbrandbazillen. Die Versuche zur Herauszüchtung pathogener Keime wurden so ausgeführt, daß zunächst starke Verdünnungen der zu untersuchenden Keimarten hergestellt wurden. Eine Oese der zu prüfenden Bazillen wurde in 5 ccm Bouillon aufgeschwemmt. Von dieser Bouillonaufschwemmung wurde dann 0,1 ccm wieder mit 5 ccm Bouillon gemischt, so daß also von den Keimen $^1/_{50}$ der Ausgangsmenge in der neuen Mischung vorhanden war. Von dieser Flüssigkeit wurde wiederum 0,1 ccm mit 5 ccm Bouillon verdünnt, so daß demnach der Keimgehalt in dem Bouillonröhrchen nur noch $^1/_{50^2}$ oder $^1/_{2500}$ der Ausgangsmenge war. Bei der entsprechend weiteren Verdünnung war nur noch eine ganz geringe Keimmenge von $^1/_{50^3}$ oder $^1/_{25000}$ der Ausgangsmenge vorhanden. Alle Verdünnungen wurden mit je einer Oese Proteusbazillen verrieben, so daß also in allen Verdünnungen die gleich große Menge von Proteusbazillen vorhanden war. Von allen vier Mischungen wurden nun sofort und nach 7stündiger Bebrütung Ausstriche auf Phag- und auf Kontrollplatten gemacht.

Streptokokken in Mischung mit Proteusbazillen.

Bei den Versuchen mit Streptokokken in Mischung mit Proteusbazillen wurden die Bakterienaufschwemmungen in Traubenzuckerbouillon gemacht, da die Keime sich in einfacher Bouillon nur schlecht vermehren. Die Verdünnungen wurden, wie oben ausführlich beschrieben, ausgeführt und auf Blut-, Kochblut- und Ascitesplatten mit und ohne Phagzusatz ausgestrichen. Durch den Phagen wurde nur das Proteuswachstum unterdrückt, während die Streptokokken, die durch keinen Proteusschleier im Wachstum gestört wurden, nunmehr besser wuchsen als auf den entsprechenden Kontrollplatten. Die Kontrollplatten waren vollständig von einem Proteusschleier überzogen.

Durch die 7stündige Bebrütung war eine Vermehrung der Streptokokken und Proteusbazillen eingetreten, so daß mehr Kolonien als bei den sofortigen Ausstrichen vorhanden waren. Auch hier waren die Proteuskolonien auf den Phagplatten schleierlos gewachsen, während die Kontrollplatten völlig von Proteus überwuchert waren.

Pneumokokken in Mischung mit Proteusbazillen.

Weiter wurde versucht, Pneumokokken mittels der Phagplatte aus Mischungen mit Proteusbazillen zu isolieren. Zur Bakterienaufschwemmung wurde, ebenso wie bei den Versuchen mit Streptokokken, Traubenzuckerbouillon verwendet. Die Verdünnungen wurden wie oben beschrieben hergestellt und auf Kochblut- und Blutplatten aus-

gestrichen. Die Pneumokokken wuchsen in kleinen, runden Kolonien; auf der Kochblutplatte waren sie leicht an der strohgelben Verfärbung der Platten zu erkennen. Auffallend groß war der Unterschied bezüglich der Zahl der gewachsenen Pneumokokken-Kolonien zwischen den Kontrollplatten und den Phagplatten; auf den Phagplatten wuchsen einmal bei geringer Verdünnung der Pneumokokkenaufschwemmung weit mehr Pneumokokken-Kolonien als auf den Kontrollplatten, weiterhin waren bei den starken Verdünnungen nur noch auf den Phagplatten Pneumokokken-Kolonien wahrnehmbar, dagegen nicht mehr auf den völlig verschleierten Kontrollplatten.

Bei 7stündiger Bebrütung ging die Zahl der gewachsenen Pneumokokken-Kolonien sowohl auf der Kontrollplatte wie auf der Phagplatte gegenüber der sofortigen Ueberimpfung stark zurück.

Meningokokken in Mischung mit Proteusbazillen.

Von den gramfreien Kokken wurden zunächst Versuche mit Meningokokken in Mischung mit Proteusbazillen gemacht. Die Bakterien wurden in Traubenzuckerbouillon in den bisher verwendeten Verdünnungen aufgeschwemmt und auf Traubenzuckerblutplatten ausgestrichen. Die Meningokokken wuchsen auf den Phag-Traubenzuckerblutplatten in kleinen, runden, leicht gewölbten Kolonien und waren gut von den vereinzelt anwesenden resistenten Proteuskolonien zu trennen. Auf den Kontrollplatten hingegen waren unter dem Proteusschleier die Meningokokken-Kolonien nicht mehr sichtbar, nur im mikroskopischen Präparat konnten die gramfreien Kokken noch nachgewiesen werden. Wie die Versuche zeigten, gelang die Herauszüchtung von Meningokokken auf den Phag-Traubenzuckerblutplatten sehr gut, selbst bei ganz geringer Anwesenheit des pathogenen Keimes und einem großen Proteusübergewicht.

Micrococcus catarrhalis in Mischung mit Proteusbazillen.

Aehnliche gute Ergebnisse wie bei der Züchtung der Meningokokken wurden bei den Versuchen, Micrococcus catarrhalis mittels der Phagwirkung von Proteusverunreinigungen zu trennen, erzielt. Die Versuchsanordnung blieb dieselbe, es wurden gleichfalls Traubenzuckerbouillon und Traubenzuckerblutplatten verwendet. Der Micrococcus catarrhalis wuchs auf den Phag-Traubenzuckerblutplatten in kleinen, runden, undurchsichtigen Kolonien. Selbst in den stärksten Verdünnungen wuchsen auf den phaghaltigen Platten noch einzelne Micrococcus catarrhalis-Kolonien, ohne von Proteus überwuchert zu werden.

Nach 7stündiger Bebrütung nahm die Zahl der gewachsenen Kolonien, und zwar sowohl der Micrococcus catarrhalis- wie der resi-

stenten Proteuskolonien zu. Die Kontrollplatten waren wiederum völlig verschleiert, eine Diagnose auf Anwesenheit der Catarrhalis-Kokken ließ sich nur mikroskopisch bewerkstelligen.

Typhusbazillen in Mischung mit Proteusbazillen.

Bei den weiteren Versuchen, empfindliche Keime aus Proteusmischungen zu trennen, wurde die Herauszüchtung pathogener Darmkeime, und zwar zunächst der Typhusbazillen mittels der Phag-Endoplatte geprüft. Die Mischungen der Typhus- und Proteusbazillen wurde in einfacher Bouillon in den bisher gebrauchten Konzentrationen hergestellt und auf Endoplatten ausgestrichen. Die Typhusbazillen wuchsen auf der Phag-Endoplatte gut aus, nur war die Unterscheidung von resistenten Proteuskolonien nicht so leicht, da die Typhus- und Proteusbazillen auf Endoplatten beide farblos wachsen. Bei genauerer Betrachtung gelang es indeß ohne weiteres, die flachen, glänzenden und mit einem gezackten Rand versehenen Typhuskolonien von den undurchsichtigen, glatt runden Proteuskolonien zu trennen. Im Zweifelsfalle kann selbstverständlich die Agglutinationsprobe sofort Sicherheit geben. Auch hier gelang es, noch aus den stärksten Typhusbazillen-Verdünnungen heraus trotz des großen Uebergewichts von Proteusbazillen die Typhusbazillen zu isolieren.

Ruhrbazillen in Mischung mit Proteusbazillen.

Bei dem nun folgenden Versuch wurde versucht, echte Ruhrbazillen aus Mischungen mit Proteusbazillen heraus zu züchten. Die Anordnung der Versuchsreihe blieb dieselbe wie bei den Typhusbazillen, es wurden ebenfalls einfache Bouillon und Endoplatten verwendet. Auf den Phag-Platten wuchs der Ruhrbazillus in kleinen, kugeligen, hellen Kolonien und unterschied sich so von den resistenten Proteuskolonien. Auch hierbei ließ sich der pathogene Keim selbst aus den stärksten Verdünnungen noch von Proteus trennen.

Gasbrandbazillen in Mischung mit Proteusbazillen.

Besondere Beachtung verdient die Herauszüchtung von Anaerobiern aus Materialien, die gleichzeitig mit Proteusbazillen verunreinigt sind. Sind nämlich, wie häufig vorkommend, nur wenig anaerobe Keime vorhanden, die in flüssigen Nährmedien zunächst angereichert werden müssen, ehe eine Züchtung auf Platten erfolgversprechend ist, so kann die Proteusverunreinigung unangenehme Störungen verursachen. Gerade hier war daher nach den bisherigen Versuchen eine Aussicht, die Anreicherungs- und Herauszüchtungsbedingungen der Anaerobier durch Phagzusätze zu verbessern.

Zur Prüfung dieser Frage wurde die bisher verwendete Versuchsanordnung etwas abgeändert. Zunächst wurden in Tarozzibouillon zwei Reinkulturen von Gasbrandbazillen angelegt. Beide wurden mit je einer Oese Proteusbazillen verunreinigt. Ein Röhrchen wurde weiterhin 48 Stunden anaerob weitergezüchtet, von dem anderen Röhrchen wurden sofort verschiedene Verdünnungen hergestellt und auf Traubenzuckerblutplatten ausgestrichen. Zu diesem Zwecke wurde 1 ccm der Tarozzibouillon mit 5 ccm einfacher Bouillon verdünnt, gut gemischt, und dann von der letzten Mischung wieder 1 ccm mit 5 ccm Bouillon verdünnt. So erhielt man drei verschiedene Verdünnungen von Proteus und Gasbrandbazillen. Diese Mischungen wurden auf Traubenzuckerblut- und auf Phag-Traubenzuckerblutplatten ausgestrichen und anaerob weitergezüchtet. Nach 48 Stunden wurde die zweite Proteus-Gasbrandmischung entsprechend verdünnt und auf Platten ausgestrichen.

Auch hier bei den Gasbrandbazillen konnten die Keime mittels der Phagplatte noch aus den stärksten Verdünnungen heraus gezüchtet werden. Die Kontrollplatten waren völlig verschleiert, so daß die Anwesenheit der Gasbrandbazillen nur mikroskopisch nachzuweisen war.

4. Ueber die verschiedenen Nährböden, die bei den vorher beschriebenen Versuchen verwendet wurden, ist zusammenfassend nochmals zu betonen, daß die Zusammensetzung der Nährböden durch den Phagen in keiner Weise geschädigt, und umgekehrt auch die Wirkung des Phagen durch die verschiedene Zusammensetzung der Platten nicht schädigend beeinflußt wurde. Bei Benutzung der Phagwirkung zur Herauszüchtung pathogener Keime aus Mischungen mit Proteusbazillen konnten also alle Nährböden mit gleich gutem Erfolge benutzt werden.

5. Die phaghaltige Flüssigkeit wurde in kleinen, sterilen Typhusröhrchen im Eisschrank aufbewahrt. Die einzelnen Röhrchen wurden mit je 2 ccm phaghaltiger Flüssigkeit gefüllt und mit paraffinierten Korken geschlossen. Der Phage hielt sich so monatelang, wie mehrfache eigene Versuche zeigten, ohne seine Wirksamkeit zu verlieren. So konnte man bei Bedarf mit einem Röhrchen von 2 ccm Inhalt in wenigen Minuten etwa 12—15 Phagplatten herstellen.

Um die Hitzeempfindlichkeit des Phagen zu prüfen, wurde das Filtrat im Wasserbad eine halbe Stunde lang auf 50^0, 60^0, 70^0 erhitzt. Wie die Versuche mit den erhitzten Phagen zeigten, wurde die Wirkung des Phagen durch die Erwärmung nicht aufgehoben. Nur durch die Erhitzung auf 70^0 wurde der Proteusphage leicht geschädigt; dies zeigte sich auf den Platten an der größeren Zahl der gewachsenen Proteuskolonien. Aber trotz der hohen Erhitzung wurde das

Schleierwachstum vollständig unterdrückt. So ist es durch Erhitzung auf 70° möglich, die phaghaltige Flüssigkeit von eventuell vorhandenen bakteriellen Verunreinigungen zu trennen.

Zusammenfassung.

1. In der Arbeit wurde die Verwendungsmöglichkeit spezifischer Proteusphagen zum Zwecke der Verhinderung von Proteusverunreinigungen bei diagnostischen Arbeiten nach verschiedenen Gesichtspunkten untersucht.
2. Als Gesichtspunkte kamen in Frage:
   a) Gewinnung des spezifischen Phagen,
   b) die Zusatzart des Phagen zum Nährboden,
   c) in welchen Verdünnungen empfindliche Keime mittels der Phagplatte noch nachgewiesen werden können,
   d) ob die Zusammensetzung des Nährbodens einen Einfluß auf die Phagwirkung hatte,
   e) wie der Phage aufbewahrt wurde.
3. Es zeigte sich sowohl bei aeroben wie bei anaeroben Keimen, die in Mischung mit Proteus vorlagen, daß selbst bei sehr geringer Anwesenheit des pathogenen Keimes gegenüber einem großen Proteusübergewicht mittels der Phagplatte noch eine Herauszüchtung möglich war. Der besondere Vorteil war der, daß dies für besonders empfindliche Keime zutraf.
   Der Phage wurde den Platten so zugesetzt, daß man phaghaltige Flüssigkeit an der Oberfläche der Platten antrocknen ließ. Die Zusammensetzung der Nährböden hatte auf den Proteusphagen keinen schädigenden Einfluß.
   Der Phage wurde im Eisschrank aufbewahrt, wo er sich monatelang hielt. Bei Erhitzung auf 60° konnte kaum eine Schwächung des Phagen festgestellt werden.

Zum Schluß meiner Arbeit sei es mir erlaubt, Herrn Prof. Dr. Fr. Sartorius für die freundliche Ueberlassung des Themas sowie für seine Anregungen bei Anfertigung dieser Arbeit zu danken.

Schrifttumverzeichnis.

Fermi	Zentralbl. f. Bakt. Orig.	Bd. 23, S. 208, 1898
Schürer und Wolff	„ „ „	Bd. 82, S, 517, 1919
Kister	„ „ „	Bd. 91, S. 280, 1924
Kleinsorgen und Jusatz	„ „ „	Bd. 104, S. 439, 1927
Sartorius	„ „ „	Bd. 107, S. 134, 1928
Sartorius	„ „ „	Bd. 107, S. 398, 1928
Bergemann	„ „ „	Bd. 112, S. 176, 1929
Speth	„ „ „	Bd. 113, S. 528, 1929
Speth	„ „ „	Bd. 116, S. 332, 1930
Kraemer und Koch	„ „ „	Bd. 120, S. 452, 1931
Schustowa	„ „ „	Bd. 122, S. 403, 1931
Lode und Howard	„ „ „	Bd. 124, S. 538, 1932
Sartorius und Boedicker	„ „ „	Bd. 125, S. 473, 1932
Speth	„ „ „	Bd. 126, S. 437, 1932
Speth	„ „ „	Bd. 126, S. 445, 1932
Shimazu	„ „ „	Bd. 126, S. 560, 1932
Speth	„ „ „	Bd. 128, S. 456, 1933
Gottsacker	„ „ „	Bd. 129, S. 433, 1933
Kollath und Rittner	„ „ „	Bd. 132, S. 181, 1934
Behmer	Archiv f. Hygiene	Bd. 89, S. 295, 1920
Dettling	„ „	Bd. 108, S. 359, 1932
Süring	Zeitschr. f. Hygiene	Bd. 103, S. 162, 1924
Seydel	Zentralbl. f. Hygiene	Bd. 10, S. 470, 1925
Jötten	Berl. klin. W.	1919, S. 270
Braun und Schaeffer	„ „ „	1919, S. 409
Schuback	Klin. W.	1926, S. 67
Kraemer und Koch	„ „	1930, S. 2257

Lebenslauf.

Ich, Mathilde Derendorf, wurde am 15. April 1913 als Tochter des Kaufmanns Wilhelm Derendorf zu Neuß am Rhein geboren. In Neuß besuchte ich die Realgymnasiale Studienanstalt, an der ich Ostern 1932 die Reifeprüfung ablegte. In meinen drei vorklinischen Semestern studierte ich in Münster, dort bestand ich am 2. August 1933 die zahnärztliche Vorprüfung. In den folgenden klinischen Semestern studierte ich in Freiburg i. Br., in Greifswald und dann wieder in Münster, wo ich am 14. November 1935 das zahnärztliche Staatsexamen bestand.